

Szegedi Tudományegyetem
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

**A nemi hormonok és neuroszteroidok hatása a mikroglia és
asztroglia sejtek sérülés indukálta aktivációjára**

PhD értekezés tézisei

Gyenes Andrea

Témavezető: Dr. Párducz Árpád

Magyar Tudományos Akadémia
Szegedi Biológiai Kutatóközpont
Biofizikai Intézet
Molekuláris Neurobiológiai Csoport

Szeged

2012

1. BEVEZETÉS

Az átlagéletkornak az utóbbi évtizedekben megfigyelt örvendetes növekedése egy ellentmondásos következménnyel is jár. Ez pedig nem más, mint az azonnali életmentő beavatkozást nem igénylő, egyre több emberre kiterjedő, és a növekvő életkorral arányosan emelkedő megbetegedések száma. Ezek közül a legjellegzetesebb betegségcsoportot azok az idegrendszeri elváltozások alkotják, melyek a neurodegeneratív kórképek gyűjtőfogalma alá tartoznak. Ezt támasztja alá, hogy az Európai Unióhoz tartozó országokban az egészségügyre fordított kiadások legnagyobb százalékát az idegrendszeri betegségek kezelésére fordítják

Érthető tehát, hogy az idegtudománnyal foglalkozó laboratóriumok alapkutatási szinten is rendkívül intenzíven vizsgálják a kóros idegrendszeri elváltozások, elsősorban a neurodegeneráció sejt és molekuláris szintű alapjait. A vizsgálatok fontos célja, hogy a már megismert összefüggések alapján új terápiás beavatkozási lehetőségeket találjanak, és minél szélesebb körű ismeretet szerezzenek a neuroprotekció eddig ismeretlen távlati lehetőségeiről.

A központi idegrendszert érintő neurodegeneratív elváltozásokat és az akut (ischémiás vagy mechanikai) sérüléseket az esetek nagy százalékában gyulladásos reakciók kísérik, így a folyamat megértéséhez feltétlenül szükséges a sejt- és molekuláris szintű mechanizmusok megismerése.

Az idegrendszeri sérülések és a lokális glia reakciók

Az idegrendszer immunológiai szempontból kivételezett helyzetben van: immunológiai felügyeletét az idegrendszer egyetlen mezodermális eredetű sejtje, a mikroglia végzi el, szoros együttműködésben nem csak a neuronokkal, hanem a szintén gyulladásos folyamatokat is aktívan szabályozó asztrogliaival.

Idegi sérülést követően a nyugalmi állapotban lévő gliasejtek aktiválódnak, amely során a mikroglia nagy, kerek, fagocitózisra alkalmas makrofág jellegű sejtté transzformálódik. Ezek az ún. aktivált mikroglia sejtek citokineket, kemokineket és szabad gyököket termelnek, melyeknek egy csoportja antiinflammatorikus hatású (pl.

TGF- β , IL-4, IL-10), míg mások (TNF- α , IL-1 β) proinflammatorikus tulajdonságúak. Asztrogliában is hasonló jelenséggel találkozhatunk, a sejtek hipertrofizáltak, jelentősen kiterjedt sejtnyúlványú aktivált asztrogliaikká válnak, melyek anyagcseréje a mikrogliaéhoz hasonlóan átalakul, fokozódik. Jelenlegi ismereteink szerint a sérülést követő glia aktiváció kétélű fegyver, mert a citokin expresszió jellegétől függően gátolhatja a gyulladásos folyamatokat, azaz neuroprotektív hatású lehet, de kedvezőtlen esetben további neuronális károsodást idézhet elő.

Az idegrendszeri gyulladásos reakciók és a hormonrendszer

Statisztikus adatok világosan bizonyítják, hogy egyes neurológiai és pszichiátriai megbetegedések szignifikánsan eltérő módon érintik a férfiakat és a nőket, ugyanakkor számos megbetegedés jelentkezik ill. súlyosbodik nagyobb hormonális változások időszakában (pubertás, szülés, menopauza). Ezen túlmenően a klinikai adatok azt mutatják, hogy a nemi hormonok fontos szerepet játszhatnak a neuroprotekciónban is, így például az ösztrogén kezelés csökkenti az Alzheimer betegség kockázatát, késlelteti kialakulását és súlyosságát, valamint elősegíti a gyógyulást traumatikus idegrendszeri sérülések után.

Számos vizsgálat igazolja, hogy a hormon neuroprotektív hatása az ösztrogén receptorokon keresztül érvényesül oly módon, hogy a neuronokban különböző növekedési faktorokat, azok receptorait és az apoptózist befolyásoló fehérjék expresszióját indukálja. Az utóbbi időben merült fel annak a lehetősége, hogy az ösztrogén nem csak közvetlenül a neuronokra hat, hanem áttételesen; a létrejövő gyulladásos folyamatokat gátolja a mikroglia és asztrogliá közvetítésével. Kimutatták, hogy ilyenkor a glia által termelt gyulladást kiváltó mediátorok (pl. iNOS, TNF- α), valamint az asztrogliában termelt gliális fibrilláris savas fehérje és vimentin expressziója is csökken. Patkány agy különböző területeit vizsgálva azt találták, hogy az ösztradiol hatásosan gátolja a gyulladást kiváltó lipopoliszaharid (LPS) kezelés utáni mikroglia aktiválódást. RT-PCR adatok szerint a gyulladásos folyamat mediátorai közül az MCP-1, MIP-2 és a TNF- α mennyisége az LPS kezelést követően szignifikánsan megnő, de ezt az indukciót 17 β -ösztradiol gátolni képes. További kísérletek azt is

igazolták, hogy a sérülést követő mikroglia reakció jellege függ a hormonális környezettől.

Lehetséges terápiás alternatívák

A hormonpótló terápia alkalmazása világszerte elterjedt nem csak a változókori tünetegyüttes csillapítására, hanem a csontritkulás, valamint vegetatív idegrendszeri zavarok esetében is. Számos tanulmány alapján az is elmondható, hogy ezen terápiában résztvevő nők esetében az Alzheimer kór gyakorisága kisebb, lefolyása kevésbé progresszív. Sajnálatos tény azonban, hogy az ösztrogén terápiás alkalmazása megnöveli a mell-, és petefészek daganatok esélyét, valamint leírták az agyvérzés gyakoribb előfordulását is. A kutatások homlokterébe így kerültek a különböző ösztrogén-hatású vegyületek, melyek nem rendelkeznek a periférián megfigyelhető káros mellékhatásokkal. A dolgozatban több különböző típusú már alkalmazott, illetve az eddigi kutatások alapján alkalmasnak tűnő hormon-hatású vegyületet vizsgáltunk meg a 17 β -ösztradiol és tesztoszteron mellett target deprivációs modellünkön: az ösztrogén metabolikus útjában szereplő dehidroepiandrosteront (DHEA), a szelektív ösztradiol receptor modulátor raloxifent, a növényi eredetű ösztrogén genisteint, valamint egy új, szintetikus úton előállított DHEA származékot.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Az értekezésben összefoglalt kísérleteink fő céljai a következők:

1. A 17 β -ösztradiol hatásának tanulmányozása a sérülést követő mikroglia aktivációra.
2. A tesztoszteron, DHEA, raloxifen és a genistein mikrogliaira gyakorolt hatásának összehasonlítása a 17 β -ösztradiol hatásával.
3. Az egér oculomotoros magjában expresszáldó két ösztrogén receptor típus (ER α és ER β) sejten belüli lokalizációjának meghatározása.
4. A DHEA és egy szintetikus DHEA származék (16 α -iodomethyl-13 α -DHEA) reaktív asztrogliózisra gyakorolt hatásának tanulmányozása denervált szagló gumóban.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Kísérleti állatok és kezelések

A vizsgálatokhoz Balb/c egereket használtuk, melyeket standard laboratóriumi körülmények között tartottunk (12:12 órás megvilágítási ciklus, szabadon hozzáférhető normál egerétáp és víz).

Három hónapos nőstény és hím Balb/c egerek mindkét oldali ivarmirigyt avertin érzéstelenítés alatt eltávolítottuk és az állatokat hagytuk regenerálódni a következő 14 napban.

A szteroidok gyulladáscsökkentő hatásának tanulmányozásához a kezelések előtt intakt hím, valamint gonadektomizált hím és nőstény egerek jobb oldali szemét eltávolítottuk el avertin narkózisban. A szubkután alkalmazott szteroidok a következők voltak (n=5): 17β -ösztadiol (50 $\mu\text{g/kg/nap}$) tesztoszteron (5 mg/100g/nap), raloxifen (1,6 mg/kg/nap), genistein (5 mg/kg/nap.), és DHEA (4 mg/kg/nap).

Az állatokat 1-21 napos túlélés után éteres altatás alatt transzkardiálisan 0,1 M foszfát-pufferrel (pH=7.4), majd 3%-os paraformaldehid oldattal perfundáltuk.

A kémiai deafferentáció modelljéhez 2 hónapos hím patkányokat használtunk, melyek szaglógumójába orrukon keresztül 200 μl 0.17 M ZnSO_4 oldatot fecskendeztünk. Két órával ezután egyszeri, DHEA vagy 16α -iodomethyl- 13α -DHEAd (50 mg/kg) intraperitoneális (i.p.) kezelést kaptak. Az aromatáz gátlóval injektált állatok még a nazális deafferentáció előtt 24 órával részesültek letrozol kezelésben (1 mg/kg). Egy hetes túlélés után az állatokat perfundáltuk, majd western blot vizsgálathoz a szaglógumójukat kipreparáltuk.

Immunhisztokémia és morfometriai analízis

A fixálás után eltávolított agyakat még egy éjszakán át szintén 0,1 M foszfát-pufferben (pH=7.4) oldott 3%-os paraformaldehid oldatban utófixáltuk, majd 30%-os cukoroldattal való kezelés után fagyasztó mikrotómmal 30 mikronos koronális metszeteket készítettünk a III. agyideg centrális magjának, a nucleus oculomotoriusnak területén.

A mikroglia sejtek feltüntetéséhez CD11b antitestet (Serotec, MCA711), az ösztrogén receptorok esetében: ER α egér monoklonális antitestet (1:500; Vector) valamint ER β nyúl poliklonális antitestet (1:500; H-150, Santa Cruz Biotechnology) alkalmaztunk. A festést szabadúszó metszeteken, ABC technológia szerint végeztük. Másodlagos antitestként biotinnal konjugált kecskében termelt anti-patkány IgG-t (1:800 Vector), anti-egér IgG-t (1:1000; Vector) és számarban termelt anti-nyúl IgG-t (1:1000; Jackson ImmunoResearch) használtunk. Immunfluoreszcens festés esetében a szekunder antitestek a következők voltak: DyLightTM549-konjugált kecske anti-nyúl IgG (1:100; Jackson ImmunoResearch), DyLightTM488-konjugált kecske anti-egér IgG (1:100; Jackson ImmunoResearch).

A metszeteket Olympus Vanox fénymikroszkópban vizsgáltuk, majd digitálisan rögzítettük (Spot RT CCD kamera segítségével), és a Media Cybernetics Image-Pro-Plus programjával értékeltük ki. Belső kontroll használatával (műtött/műtetlen oldal megfelelő arányszámainak bevezetésével) a metszetek közötti variabilitásból eredő hibát csökkentettük. Két paramétert vizsgáltunk: az immunfestődés erősségét (denzitását) és az immunfestődött sejtek által lefedett terület nagyságát. Mindkét paraméter a mikroglia aktivációt/proliferációt jellemzi.

Fluoreszcens metszetek esetében konfokális lézer pásztázó mikroszkópot használtunk (Olympus Fluoview FV1000).

A mikroglia sejtszám meghatározásához ún. „unbiased optikai diszektor” módszert alkalmaztunk, amely alkalmas a 3 dimenziós objektumok mérettől és alaktól független sűrűség-meghatározására. A módszer lényege: nagy (40x) nagyítású objektíven keresztül digitalizáltunk egyazon metszetről két egymástól 10 μ m távolságra elhelyezkedő optikai síkot. Kiértékeléskor azokat a mikroglia sejteket számoltuk, melyek a meghatározott síkban fókuszban voltak, a másik síkban pedig vagy már hiányoztak, vagy kiestek a fókuszról.

A számszerű sűrűség meghatározása a következő formulával volt számítható:

$$ND = \Sigma Q_{+} / V_{dis}$$

Ahol a ΣQ_{+} a megszámlált sejteket jelenti a kijelölt térfogatban, V_{dis} (175 x 230 x 10 μ m³) pedig a diszektor módszer által kijelölt térfogatot.

Western Blot

Az azonos mennyiségű fehérjét tartalmazó mintákat SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel választottuk szét, majd nitrocellulóz membránra blottoltuk. A blokkolás után a membránokat elsődleges ellenanyaggal (monoklonális GFAP antitest (1:60 000), valamint β -actin (1:5000), mint a géltre vitt mennyiség kontrollja) egy éjszakán át inkubáltuk. Ezután HRP konjugált másodlagos antitesttel kezeltük, mostuk, majd kemilumineszcens szubsztrát segítségével röntgen filmen vizualizáltuk a fehérjét. A filmeket Image Pro Plus 6.2 software segítségével értékeltük ki.

Az eredmények statisztikai értékelése

A morfometriai statisztikai analízisekhez kétszemponos varianciaanalízist használtunk, míg a western immunoblot eredményeit egyszemponos variancia analízis segítségével értékeltük ki. Szignifikáns eltérésnek az 5%-nál kisebb valószínűségi értéket tekintettük ($p < 0.05$).

4. EREDMÉNYEK

Sérülés indukálta mikroglia reakció jellemzői, a 17 β -ösztradiol hatása az aktivált mikroglia

A külső szemmozgató izmokat beidegző n. oculomotorius magja a középagy rostrális részén, a colliculus superior magasságában található. Kontroll állatokban a mikroglia előfordulása a mag területén nem gyakoribb, mint a környező agyterületeken.

Az enukleációt követően a sértett oldalon a mikroglia specifikus CD11b immunreakció intenzitásának idő függvényében történő növekedése figyelhető meg, mely jelzi a mikroglia aktivációt. Nagy felbontású felvételeken feltűnő az aktiválódó mikroglia sejtek morfológiájának változása: a sejttestük megduzzad, nyúlványaik megrövidülnek, megvastagodnak. A reakció időbeli lefolyásáról megállapítható, hogy a mikroglia aktiválódás jelei már a műtétet követő első nap kimutathatóak, míg a hatás maximumát a negyedik napon éri el, amely megnyilvánul mind a mikroglia által lefedett területben, annak denzitásában, a sejtszám növekedésében is. Ez az aktiválódott állapot fennáll a 8. napig, ekkor kezdődik meg a mikroglia reakció csillapodása, melynek következtében a 21. napra, aktiválódott mikroglia már nem figyelhető meg. Ez alapján további kísérleteinket 4 napos túlélő állatokon végeztük el.

Elsőként az enukleációt követően 17 β -ösztradiollal naponta kezelt ovariectomizált egereket hasonlítottunk össze a kontroll, nem kezelt csoporttal. A mikroglia reakció a vizsgált 1-4 napos időperiódusban a két csoport között eltért, miszerint az ösztradiollal kezelt egerek esetében az operált oldalon a 4. napra szignifikánsan lecsökkent a mikrogliaák száma, és az általuk lefedett területek nagysága is.

A DHEA hatása az aktivált mikroglia

Mivel mára már bebizonyosodott, hogy az ösztradiolnak számos nem kívánatos mellékhatása van a periférián, ezért kutatásainkat kiterjesztettük az egyik legjobban ismert neuroszteroidra, a DHEA-ra. Ugyanazt a protokollt követve naponta injektáltuk az ovariectomizált állatokat DHEA-val. Összehasonlítva megállapítottuk, hogy a DHEA-nak az ösztradiollal megegyező hatása van a mikroglia aktivációjára.

Ivari dimorfizmust mutató mikroglia válaszok az oculomotorius magban

Következő kísérleteinkben teszteltük, hogy vajon létezik-e nemi különbség a mikroglia sejtek denzitásában kontroll, nem enukleált hím és nőstény egerek közt. Ehhez ovariectomizált, orchidectomizált, és hím egereket használtunk. A morfometrikus analízis az így kapott CD11b immunfestésről azt mutatta, hogy a legerőteljesebb mikroglia denzitás a hím kontroll állatok esetében van, míg ennél szignifikánsan alacsonyabb az ovariectomizált állatok csoportjában. Az orchidectomizált csoportban köztes értéket találtunk.

További vizsgálatainkban összehasonlítottuk a 17β -ösztradiol, a DHEA és a tesztoszteron hatását a mikroglia reakcióra, ovariectomizált, és orchidectomizált állatokban. Megállapítottuk, hogy az orchidectomizált állatok esetében kevésbé erőteljes mikroglia reakció figyelhető meg, valamint a 17β -ösztradiol, illetve a DHEA nem csökkentette a reakciót szignifikánsan, habár a tendencia megfigyelhető. A tesztoszteron kezelés nem csökkentette a sérülés által kiváltott mikroglia aktivációt sem az orchidectomizált, sem az ovariectomizált egerekben.

A raloxifen és a genistein hatása a sérülést követő mikroglia reakcióra

Miután megállapítottuk, hogy ovariectomizált állatokban az ösztradiol, valamint a DHEA képes csökkenteni a sérülést követő mikroglia aktivációt, a következő kísérlet sorozatban további hormon, illetve hormon hatású vegyületek tesztelését végeztük el, nevezetesen a fitoösztrogén genistein és a szelektív ösztrogén receptor regulátor raloxifen hatását vizsgáltuk. Ugyanazt a modellt használva eredményeink azt mutatják, hogy míg a raloxifen a DHEA-val és az ösztrogénnel megegyező hatással bír, addig a fitoösztrogén genistein nem hat szignifikánsan ebben az állatmodellben.

Az ösztrogén receptorok lokalizációja a nucleus oculomotoriusban

Az ösztrogén receptorok expressziójának vizsgálatát immunhisztokémiai módszerrel végeztük el. Ennek során számos antitesttel próbáltuk kimutatni valamely ösztrogén receptor jelenlétét mikrogliaiban, de az oculomotorius mag területén kizárólag motoneuronokban találtunk receptor festődést. Érdekeség, hogy mindkét ösztrogén

receptor megtalálható ezekben a sejtekben, habár festődésük mintázata eltér. Az alfa típusú receptor esetében a citoplazma intenzív festődést mutat, ugyanakkor a sejtmagokban nem látható jel (koronális metszeten, más területeken megfigyelhető a klasszikus magi festődés). Az ösztrogén receptor béta mintázata jellegzetesen „pöttyös”, mind a citoplazmában, mind a sejtmagban.

16 α -iodomethyl-13 α -DHEA hatása a reaktív gliózisra

Korábbi kísérleteinkben már bizonyítottuk, hogy a DHEA szignifikánsan csökkenti a reaktív gliózis mértékét kémiai úton denervált patkány szaglógumóban. A továbbiakban kérdésként merült fel, hogy vajon valamely szintetikus DHEA származékkal hasonló jótékony hatást érhetünk-e el, mivel a humán kezeléseknél a DHEA alkalmazása vitatott. Ehhez a Szegedi Tudományegyetemen újonnan szintetizált, 16 α -iodomethyl-13 α -DHEAd-t használtuk. Eredményeink meglepőek voltak, a DHEA származék önmagában nem, csak előzetesen aromatáz inhibitorral (letrazol) kezelt állatokban hatott, szignifikánsan csökkentette a GFAP expressziót. A hatás magyarázata a molekula szerkezetében keresendő: számítások alapján a 16 α -iodomethyl-13 α -DHEAd szintetizálásakor bekövetkező epimerizáció konformáció változást okoz: a DHEA-ra jellemző sík szteránváz a szintetikus származékban meghajlik. Ennek következtében a DHEA származék már más kötőhelyekhez tud kapcsolódni, pl. letrazol hiányában kötődhet az aromatáz enzimhez, a nagy affinitású aromatáz gátló letrazol jelenlétében viszont nem az aromatázhoz köt és kifejtheti az eredeti DHEA molekulára jellemző hatást, egyelőre nem tisztázott útvonalon.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

A központi idegrendszerben fellépő gyulladások előfordulnak mind sérülések, mind neurodegeneratív megbetegedések következményeként. A gyulladásos reakciókban kulcsszerepet játszanak az immunrendszer központi idegrendszerre jellemző tagjai, a mikroglia sejtek, melyek nem pusztán a nekrotikus sejtörmelék eltakarításában játszanak szerepet, hanem aktívan részt vesznek a gyulladásos állapot előidézésében, így felelősek a neuronok pusztulásáért is.

Idegi sérülést követően a nyugalmi állapotban lévő mikroglia sejtek aktiválódnak, morfológiai és funkcionális változásokon mennek keresztül. Ezek az ún. aktivált mikroglia sejtek citokineket, kemokineket és szabad gyököket termelnek, károsítva ezzel a környező neuronokat. Emiatt rendkívül lényeges azon molekuláris mechanizmusok tisztázása, melyek a mikroglia aktiválódásában szerepet játszhatnak.

Az utóbbi időszak kutatásainak fényében alapvetően megváltozott szemléletünk a nemi hormonok, és elsősorban az ösztrogén idegrendszerben betöltött szerepét illetően. A legújabb vizsgálatok alapján elmondható, hogy az ösztrogénnek kiemelt funkciója van az idegrendszert érő sérülések káros következményeinek csökkentésében, a regeneráció folyamatában. A jelen dolgozatban 17β -ösztradiol, tesztoszteron, DHEA, raloxifen és genistein hatását vizsgáltuk a sérülés okozta mikroglia aktivációra. Ehhez az általunk használt egér modellben egyoldali enukleációt végeztünk, melynek során sérültek az extraocularis izmokat beidegző III. agyideg axonjai. A sérülést követő változásokat a III. agyideg centrális magjában, a nucleus oculomotoriusban tanulmányoztuk, a mikroglia reakció időbeli lefutását, valamint morфомetriai elemzését is elvégeztük.

Az értekezés fontosabb megállapításai a következők:

1. 17β -ösztradiol csökkenti a sérülést követő mikroglia aktiválódást egér nucleus oculomotoriusában.
2. A DHEA kezelés eredménye nemi különbséget mutat: ovariectomizált állatokban csökkenti a mikroglia választ, orchidectomizált egerekben nincs szignifikáns hatása.

3. A szelektív ösztrogén receptor modulátor raloxifen a 17β -ösztradiolhoz hasonló hatású, a tesztoszteron és genistein ebben a kísérletes modellben hatástalan.

4. Immunhisztokémiai módszerrel igazoltuk hogy az oculomotorius mag területén a mikroglia sejtek nem tartalmaznak ösztrogén receptort, míg a motoneuronokban mindkét típusú receptor megtalálható. Az $ER\alpha$ and $ER\beta$ sejten belüli lokalizációja különböző.

5. A DHEA és a 16α -iodomethyl- 13α -DHEA molekulák modellezésével valószínűsítettük, hogy a két vegyület hatásának különbségét a szteránváz 3D szerkezetének megváltozása okozza.

Az a tény, hogy a mikroglia válasz hormonális érzékenységet mutat, azt jelzi, hogy a hormonális hatások fontos tényezők a sérülést követő szerkezeti és funkcionális regenerációnak. Saját eredményeink segíthetnek azon molekuláris mechanizmusok kiderítésében, melyek a központi idegrendszer gyulladást keltő ill. gyulladást gátló reakcióit szabályozzák.

6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Párducz Árpádnak a diák és doktorandusz éveim alatt nyújtott gondos vezetéséért és bizalmáért, mellyel támogatta a munkámat. Végtelen türelme nagyban hozzájárult a dolgozat elkészültéhez. A kutatási tervek és eredmények megvitatása bővítette ismereteimet, és könnyebbé tette a munkámat.

Köszönettel tartozom Dr. Siklós Lászlónak, az MTA SZBK Biofizikai Intézet Molekuláris Neurobiológiai Laboratórium vezetőjének, hogy lehetővé tette az intézetben doktori munkám elvégzését, továbbá köszönöm segítő hasznos tanácsait, melyek elengedhetetlen voltak munkám kivitelezésében.

Köszönetemet fejezem ki a Neurobiológiai csoport minden volt és jelenlegi tagjának. Különösen hálás vagyok Dr. Hoyk Zsófiának, aki a munkámban végzett technikák elsajátításához, és az értekezésem összeállításához nyújtott önzetlen segítséget. Dr. Csákvári Eszternek baráti segítőkészségért az elmúlt hosszú évek alatt.

Hálával tartozom családomnak, barátaimnak szeretetükért, és biztatásukért mellyel támogattak egyetemi, és doktori tanulmányaim alatt.

PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

I. **Gyenes A.**, Hoyk Z., Csakvari E., Siklos L., Parducz A.

17 β -estradiool attenuates injury-induced microglia activation in the oculomotor nucleus
Neuroscience, 171:677-682. (2010) IF: 3.215

II. Hoyk Z, Csákvári E, Szájli A, Kóti J, Paragi G, **Gyenes A**, Wölfling J, Pfoh R, Rühl S, Párducz A

Computer-aided structure analysis of an epimerized dehydroepiandrosterone derivative and its biological effect in a model of reactive gliosis.

Steroids. 75(3):265-71.(2010) IF: 3.106

Az értekezéshez nem kapcsolódó közlemények:

Csakvari E, Hoyk Z, **Gyenes A**, Garcia-Ovejero D, Garcia-Segura LM, Párducz A.

Fluctuation of synapse density in the arcuate nucleus during the estrous cycle.

Neuroscience, 144(4):1288-92. (2007) IF: 3.41

Csakvari E, Kurunczi A, Hoyk Z, **Gyenes A**, Naftolin F, Parducz A.

Estradiol-induced synaptic remodeling of tyrosine hydroxylase immunopositive neurons in the rat arcuate nucleus

Endocrinology. 149(8):4137-41. (2008) IF: 5.313

Kurunczi A, Hoyk Z, Csakvari E, **Gyenes A**, Párducz A.

17 β -estradiool-induced remodeling of GABAergic axo-somatic synapses on estrogen receptor expressing neurons in the anteroventral periventricular nucleus of adult female rats

Neuroscience. 158(2):553-557. (2009) IF: 3.292